

**DIE SAUERSTOFF-AFFINITÄT
KONZENTRIERTER FRAKTIONEN VON
FOETALEM UND ADULTEM HÄMOGLOBIN
IN GEGENWART VON
2,3-DIPHOSPHOGLYCERAT UND METHÄMOGLOBIN**

Karl Fürst

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555615_0071

AUS DER KINDERKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. med. K. Betke

DIE SAUERSTOFF - AFFINITÄT KONZENTRIERTER FRAKTIONEN
VON FOETALEM UND ADULTEM HÄMOGLOBIN IN GEGENWART VON
2,3 - DIPHOSPHOGLYCERAT UND METHÄMOGLOBIN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians - Universität München

vorgelegt von
Karl Fürst
aus
Fürstenfeldbruck

München 1976

Mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. K. Riegel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. K. Betke

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14. 4. 1977



INHALTSANGABE

	Seite
I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
II. METHODEN	3
1. Herstellung der Hämolysate	3
2. Bestimmung des Sauerstoff-Gehaltes und der Sauerstoff-Kapazität	4
3. Messung des Sauerstoffpartialdruckes und des pH-Wertes	6
4. Äquilibrieren der Hämolysate	6
5. Methämoglobin- und Hämoglobin-Bestimmung	6
6. Berechnung der Hb O ₂ -Gleichgewichtskurve	7
III. ERGEBNISSE	8
1. Adultes Hämoglobin Hb - A ₁	8
2. Foetales Hämoglobin Hb - F	10
3. Häm- Häm- Wechselwirkung	12
IV. DISKUSSION	14
V. ZUSAMMENFASSUNG	18
VI. LITERATURVERZEICHNIS	19
VII. ANHANG	24
Tabellen	24
Lebenslauf	32

I. EINLEITUNG

Methämoglobin (Met-Hb) entsteht in vivo ständig und liegt im Erythrozyten in einer physiologischen Konzentration von 0,2-1,0 % des Hämoglobins vor. Diese oxydierte (Ferri-) Form des Hämoglobins hat keine Sauerstofftransportfähigkeit. Die Erythrozyten enthalten ein Enzym, die Met-Hb-Reduktase, die das Ferri- (Fe^{+++}) Hämoglobin zu Ferro- (Fe^{++}) Hämoglobin reduziert. Das pathologische Erscheinungsbild der Methämoglobinämie mit Cyanose und Gewebshypoxie tritt laut KIESE (16) in der Regel bei einer Konzentration von 1,5 g% Fe^{+++} -Hämoglobin auf. Die erworbene Methämoglobinämie entsteht durch Met-Hb-bildende Medikamente (Phenacetin, Sulfonamide) oder Gifte (Nitrite, Chlorate, Anilinderivate) (Übersicht bei KIESE (16)). Die Ursachen der kongenitalen Methämoglobinämie sind entweder ein Enzym-Defekt (Met-Hb-Reduktasemangel) oder fehlerhafte Hämoglobinstrukturen (Hb-M).

Seit langem ist bekannt, daß die Sauerstoff-Affinität partiell oxidierten adulten Hämoglobins erhöht ist (7,17). Die in vitro gefundenen, inzwischen in vivo bestätigten (8) Ergebnisse mit einer deutlichen Linksverschiebung der Hämoglobin-Sauerstoff-Gleichgewichtskurve bei ansteigenden Fraktionen von Methämoglobin stimmen jedoch nicht mit anderen in vivo gefundenen Ergebnissen bei der Methämoglobinämie (8,16,18,20,27,28) überein. Der Widerspruch ist bisher nicht geklärt, er könnte methodische Ursachen haben. Die Experimente in vitro wurden mit hochverdünnten Hämoglobinlösungen in Gegenwart von anorganischem Phosphat durchgeführt. Beide Faktoren, Verdünnung (11) und anorganische Phosphate beeinflussen die Sauerstoff-Affinität. Offen blieb bisher, inwieweit der allosterische Effekt von organischem Phosphat, der erst 1967 entdeckt wurde (CHANUTIN u. CURNISCH (6); BENESCH u. BENESCH (4)), bei partiell oxidierten Hämoglobinen zum Tragen kommt.

Das Thema hat daneben einen interessanten klinischen Aspekt. Es stellt sich nämlich die Frage, ob die veränderte Hb-O_2 -Affinität der hereditären Methämoglobinämie verantwortlich sein kann für die Cerebralschäden, die gelegentlich bei dieser Krankheit beobachtet werden. Dazu muß die O_2 -Affinität partiell oxidierten

foetalen Hämoglobins untersucht werden. Ich habe mich folglich mit dem allosterischen Effekt von 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) auf die Sauerstoff-Bindungs-Fähigkeit von partiell oxidiertem adultem (Hb A₁ = Majorfraktion) und foetalem Hämoglobin (Hb F) beschäftigt. Um in vivo Bedingungen möglichst nahe zu kommen, wurden diese Untersuchungen an isolierten Hämoglobinen vorgenommen, bei Hb-Konzentrationen, pH-Wert und Ionenstärke, wie sie physiologischerweise im Erythrozyten vorliegen.

II. METHODEN

1. Herstellung der Hämolysate

Humanes adultes und foetales Hämoglobin wurden aus Frischblut (Konserven der Blutbank) bzw. Nabelschnurproben* nach JONXIS und HUISMANN (15) durch DEAE-Sephadex A50 Chromatographie isoliert und zugleich von 2,3-DPG befreit ($2,3\text{-DPG} < 10^{-5}\text{M}$). Die isolierten Hämoglobine Hb A₁ und Hb F (Hb F_O + Hb F₁) wurden durch Ultrafiltration (AMICON^R Membran XM 50) auf 30g/100 ml in 0,05 M TRIS·HCL (Trishydroxymethylaminomethan), pH 7,15 eingeengt, entsprechend einer normalen intraerythrozytären- und Hämoglobin-Konzentration. Harz und Puffer wurden mit Sauerstoff äquilibriert. Die Temperatur während der Säulenchromatographie überstieg nicht 12°C, während der Ultrafiltration nicht 4°C. Der pH wurde über 7,5 gehalten bis zur abschließenden Dialyse gegen 0,05 M TRIS, pH 7,15, um Methämoglobinbildung zu verhindern.

Die Methämoglobinbildung von 2 % - 75 % erfolgte durch Autooxidation bei Normal- oder reduziertem O₂-Partialdruck in 37°C Umgebungstemperatur. Stichproben ergaben keine bakterielle Kontamination. Ein Kontrollexperiment in Gegenwart von 1 µg/ml Gentamycin erbrachte normale Ergebnisse.

Die Hämolysate wurden in 3 Portionen aufgeteilt.

2 von 3 Teilmengen enthielten je 1 mM bzw. 5 mM 2,3-DPG (Boehringer, Mannheim), die 3. Probe blieb 2,3-DPG-frei. In einer weiteren Serie erhielten die Proben 0,6 M anorganisches Phosphat, 0,05 M TRIS, pH 7,15. Die Gesamtionenstärke betrug dabei $I = 1,487$.

* Für die Überlassung sei Prof. Dr. K. Richter, Dir. der II. Universitäts-Frauenklinik München gedankt.

2. Bestimmung des Sauerstoff-Gehaltes und der Sauerstoff-Kapazität

Sauerstoff-Gehalt und Sauerstoff-Kapazität wurden in 3-fach Messungen aus 0,02 ml Proben in einem LEX O₂ CON total oxygen analyzer (Lexington Instruments Corp., Waltham, Mass.) ermittelt. Eine 20 µl Probe wird mit Hilfe einer geeichten HAMILTON-Spritze in ein mit destilliertem Wasser gefülltes, sauerstoff-freies System injiziert, das von einem Trägergas (97 % N₂; 2 % H₂; 1 % CO) in konstantem Fluß (30 cc/min) durchströmt wird. Kohlenmonoxyd löst den Sauerstoff aus der Hämoglobinbindung. Im Trägergas mitgeführt, wird er von einer sauerstoff-sensitiven galvanischen Zelle quantitativ als freigesetzte Elektronen registriert. Das Ergebnis wird digital in ml/100 ml angezeigt. Das Gerät wird vor Beginn der Messungen mit 20 µl Raumluft auf STPD-Bedingungen geeicht:

$$\text{Eichwert (ml/100 ml)} = 20,93 \times \frac{273}{273 + t} \times \frac{(BP - p_{H_2O})}{760}$$

(t = Raumtemperatur, BP = Barometerdruck, p_{H₂O} = Wasserdampfdruck).

Der methodische Fehler des Verfahrens betrug in meinen Händen für Blutproben (N = 10) $\pm 0,2$ ml O₂/100 ml Blut. Er ist damit geringer als derjenige bisher geübter Methoden.

Ein Vergleich des volumetrischen (Gaschromatograph) und galvanischen (LEX O₂ CON) Verfahrens (Abb. 1) ergab in einem weiten Meßbereich gute Übereinstimmung. Die Regressionsgleichung lautet:

$$\text{LEX O}_2 \text{ CON (ml O}_2\text{/100 ml)} = 1,0247 \text{ GCM (ml O}_2\text{/100 ml)} + 0,313 \\ (\pm 0,453);$$

$$r = 0,9986; n = 55.$$

Die mit dem LEX O₂ CON um etwa 3 % höher ermittelten Werte dürften die genaueren sein. Der Differenzbetrag stellt wahrscheinlich die durch Dekompression eingetretenen Verluste dar, die bei der Gaschromatographie bzw. beim klassischen Verfahren nach VAN SLYKE unumgänglich sind.

O₂-Gehalt, Methodenvergleich Lex-O₂-Con / Gas-Chromatograph

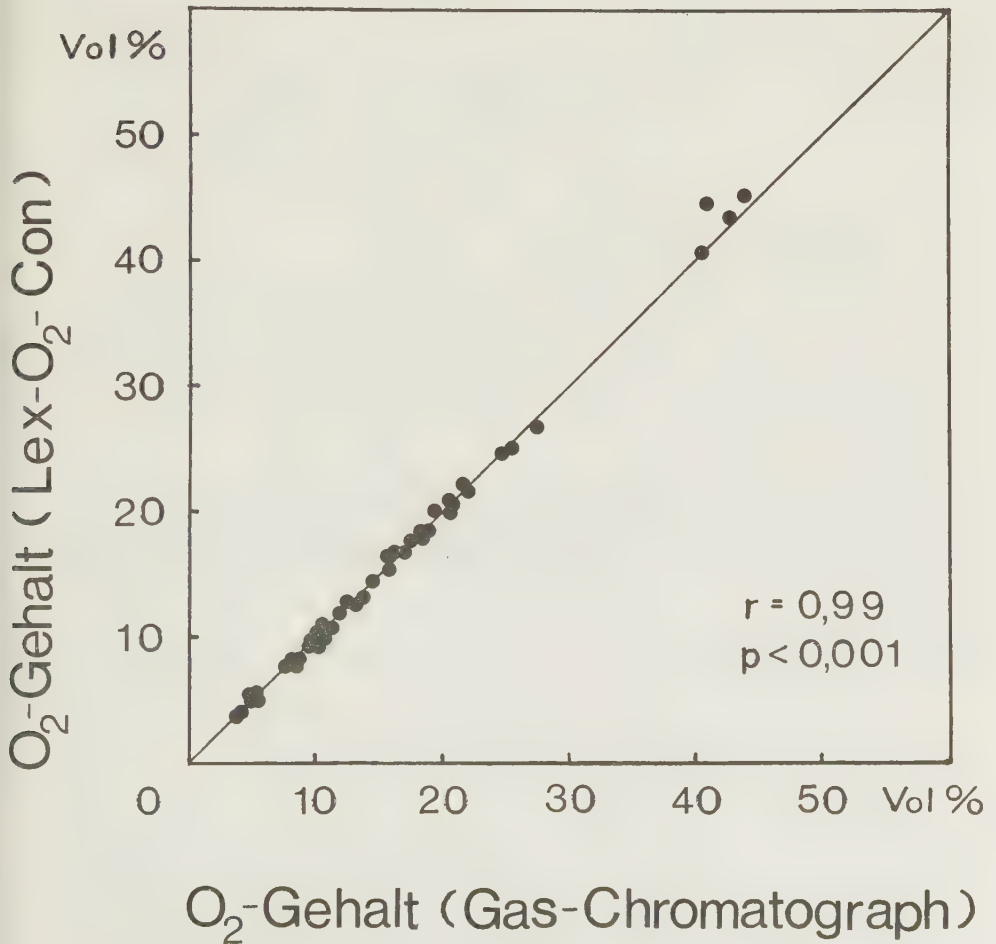


Abb. 1: Korrelation der volumetrisch (Gaschromatograph) und galvanisch (LEX O₂ CON) bestimmten Werte des Sauerstoffgehaltes von Hämoglobinlösungen. Die durchgehende Gerade stellt die Identitätslinie dar.

3. Messung des Sauerstoffpartialdruckes und des pH-Wertes

pH-Wert und Sauerstoffpartialdruck wurden in einem pH/Gas Analyzer (Instrumentation Laboratory INC) Modell 113 - S 1 bei einer konstanten Temperatur von 37°C gemessen. Die Elektroden wurden mit 2 Standardpuffern (6,84 bzw. 7,384) bzw. Gasen bekannter Zusammensetzung geeicht (Wösthoff-Pumpen-Gemische).

Der Hb-Lösung/Gas-Korrekturfaktor der Platinelektrode betrug in meinen Händen < 150 Torr 1,05 und > 150 Torr 1,11. Bei der Doppelbestimmung wurde ein Übereinstimmen der Einzelmeßwerte beim P_{O_2} innerhalb $\pm 1,5$ Torr, beim pH $\pm 0,01$ Einheiten gefordert.

4. Äquilibrieren der Hämolyse

Die 3 Proben mit 0,1 mM; und 5 mM 2,3-DPG wurden parallel in LAUE-Rotationstonometern äquilibriert in einem Wasserbad von konstanter Temperatur ($37^\circ\text{C} \pm 0,1$) mit Gasgemischen, geliefert von WÖSTHOFF-Pumpen, das verschiedene Sauerstoffkonzentrationen in Stickstoff enthält.

Die O_2 -Kapazität der Proben wurde nach Äquilibration mit 40 % Sauerstoff bei 37°C ermittelt. Um eine jeweils maximale Hb- O_2 -Sättigung zu erreichen, wurden die Proben mindestens 20 min. tonometriert.

Die O_2 -Kapazität jedes Ansatzes wurde zu Beginn und am Ende eines Versuchs bestimmt.

5. Methämoglobin- und Hämoglobin-Bestimmung

Methämoglobin wurde in Zweifachbestimmung spektrophotometrisch nach EVELYN und MALLOY 1938 (10) und über den HÜFNER-Faktor ml O_2 /g Hb (G. HÜFNER:Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 1; 317; 386 (1893)) ermittelt. In Met-Hb-freien Proben wurde folgender Wert bestimmt: 1g adultes Hb ($n = 12$) bzw. 1g foetales Hb ($n = 8$) bindet 1,38 ($\pm 0,03$ SD) ml O_2 , was dem Erwartungswert fast entspricht (24).

Die Methämoglobinkonzentration errechnet sich danach als

$$\frac{((\text{Hb} \times 1,38) - (\text{O}_2\text{-Kapazität})) \times 100}{\text{Hb} \times 1,38}$$
. Da während des Versuchs

die Autoxidation fortschreitet (pro Stunde um 1,5 - 2 %), wurde der Mittelwert der O_2 -Kapazitätsanalysen zu Beginn und am Ende der Untersuchung als Met-Hb-Konzentration des jeweiligen Ansatzes genommen. Hb wurde als Cyan-Met-Hb in üblicher Weise spektrophotometrisch gemessen.

6. Berechnung der Hb- O_2 -Gleichgewichtskurve

Die Hb- O_2 -Gleichgewichtskurve wurde graphisch dargestellt (Einzelheiten bei (24)). In diesem Koordinatensystem ist die Ordinate

$\log \frac{\text{SO}_2}{100 - \text{SO}_2}$ und die Abszisse $\log \text{PO}_2$. Die $\log \text{PO}_2$ -Werte wurden

unter Berücksichtigung der Bohr-Faktoren $\frac{\Delta \log \text{PO}_2}{\Delta \text{pH}} = 0,39$ bei DPG-

freien Hämoglobinlösungen, - 0,43 bei 1 mM 2,3-DPG und - 0,56 bei 5 mM 2,3-DPG (nicht veröffentlichte Befunde von RIEGEL) auf einen pH-Wert 7,15, d.h. auf einen normalen intraerythrozytären pH-Wert, umgerechnet, um vergleichbare Bedingungen zu haben. Met-Hb hat nach den Untersuchungen von KLINGENMÜLLER und KIESE 1949 (17) sowie ENOKI et al. 1969 (9) keinen Einfluß auf den Bohr-Faktor. SO_2 (= O_2 -Sättigung) ergibt sich aus $\frac{\text{O}_2\text{-Gehalt} \times 100}{\text{O}_2\text{-Kapazität}}$. Aus der Steigung

der Geraden läßt sich der Hill-Faktor N ablesen $\left(\frac{\Delta \log (\text{SO}_2 / 100 - \text{SO}_2)}{\Delta \log \text{PO}_2} \right)$,

der als Maß der Kooperation der Hb-Moleküle gilt. Der P_{50} -Wert stellt den ($\log$) PO_2 -Wert bei 50 %iger O_2 -Sättigung des Hämoglobins dar.

III. ERGEBNISSE

Die Meßwerte sind in den Tabellen I-V zusammengefaßt bzw. in den Abbildungen 1-5 aufgezeichnet.

1. Adultes Hämoglobin Hb - A₁

Der Effekt von 1 mM und 5 mM 2,3-DPG auf den $\log P_{50}$ von humanem Hb - A₁ ist in Abbildung 2 dargestellt, die Einzelwerte sind in Tabelle I aufgeführt. An dem Bild sind zwei Aspekte bemerkenswert:

1. 2,3-DPG erhöht $\log P_{50}$ auch in Gegenwart von Methämoglobin.
2. Steigende Met-Hb-Mengen lassen den $\log P_{50}$ abfallen. Der allosterische Effekt von 2,3-DPG auf partiell oxidiertes humanes Hb - A₁ nimmt ab bei zunehmender Autoxidation bis 50 % Methämoglobin, absolut und relativ.

Die Regressionskonstanten sind in Tabelle IV zusammengefaßt. Bei niedrigen Methämoglobinkonzentrationen ($< 10\%$) beträgt der P_{50} $12,2 \pm 2,2$ Torr, bei 50 % Methämoglobin $9,2 \pm 0,8$ Torr und bei 75 % Methämoglobin $7,8 \pm 0,6$ Torr. Bei der Zugabe von 1 mM 2,3-DPG beträgt der P_{50} entsprechend $16,4 \pm 1,7$ Torr, $11,8 \pm 0,4$ Torr und $9,6 \pm 0,3$ Torr; bei 5 mM 2,3-DPG $25,0 \pm 2,1$ Torr, $15,8 \pm 0,7$ Torr und $12,3 \pm 1,1$ Torr.

Bei DPG-freien Hämoglobinlösungen mit 0,6 M anorganischem Phosphat entspricht der $\log P_{50}$ jenen Werten in Gegenwart von 1 mM 2,3-DPG. Der P_{50} beträgt bei niedrigen Methämoglobinkonzentrationen ($< 10\%$) $14,5 \pm 0,8$ Torr und bei 67,7 % $9,9 \pm 0,4$ Torr. Die $\log P_{50}$ -Werte sind in Tabelle III zusammengefaßt.

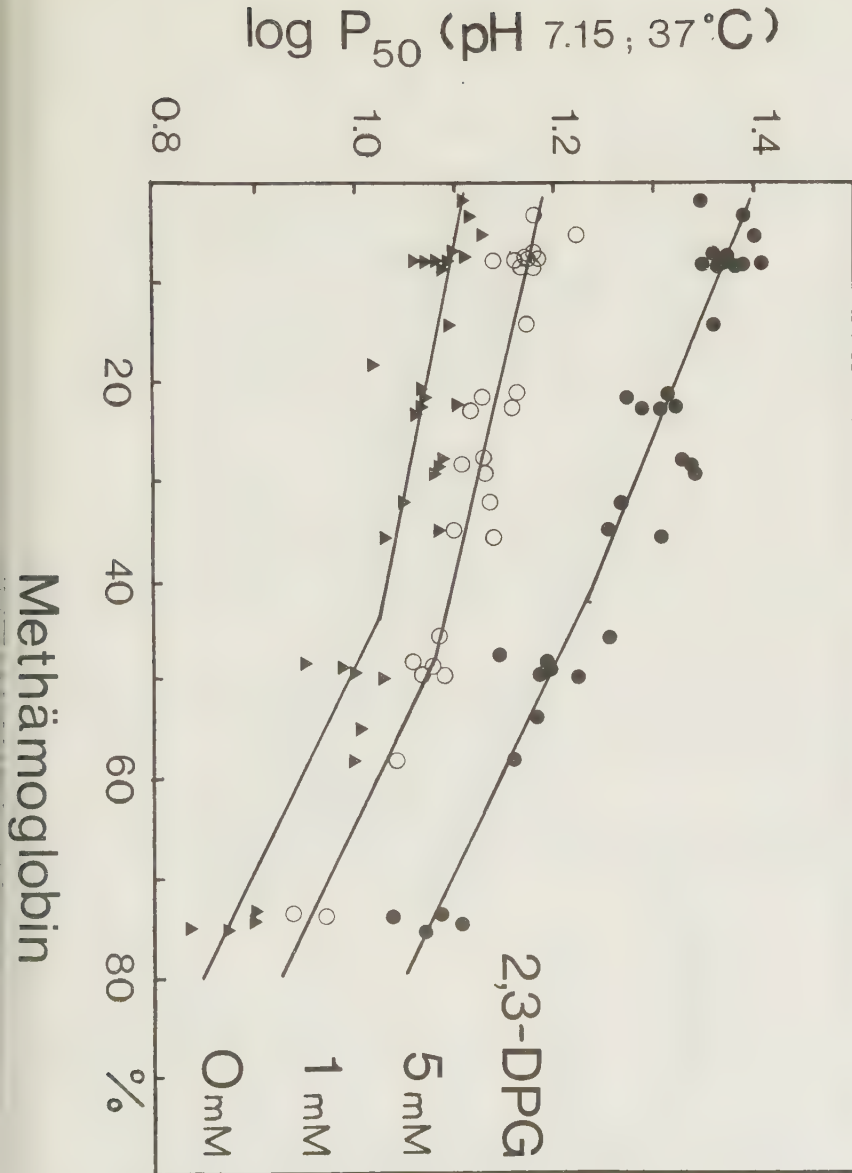


Abb. 2: Der Effekt von 1 mM und 5 mM 2,3-DPG auf den $\log P_{50}$ (pH 7,15; 37°C) von partiell oxidiertem adultem Hb - A₁ (%). Die Hb-Konzentration entspricht einer normalen intraerythrozytären Konzentration von 30 g/100 ml. Die Met-Hb-Abschnitte für die Regressionsgeraden (vgl.Tab.IV) wurden rein visuell herausgegriffen.

2. Foetales Hämoglobin Hb - F

Der Effekt von 1 mM und 5 mM 2,3-DPG auf den $\log P_{50}$ von partiell oxidiertem humanem Hb - F bei physiologischen Hämoglobinkonzentrationen ist in Abbildung 3 dargestellt.

der $\log P_{50}$ ohne 2,3-DPG unterscheidet sich kaum von dem des adulten Hb - A₁, der $\log P_{50}$ sinkt ebenso bei zunehmenden Methämoglobinfractionen, vielleicht insgesamt etwas steiler als bei Hb - A₁. In Gegenwart von 2,3-DPG (1 mM und 5 mM) zeigt sich aber eine deutlich geringere P_{50} -Zunahme als bei Hb - A₁ bei jeder Methämoglobinfraction. Bei 5 mM 2,3-DPG ist die Steigung der Regression $\log P_{50}$ versus Methämoglobinfraction steiler, wenn Methämoglobin 50 % übersteigt.

Bei niedrigen Methämoglobinkonzentrationen ($< 10\%$) beträgt der P_{50} 13,1 Torr, bei 50 % Methämoglobin 10,0 Torr und bei 75 % Methämoglobin 8,3 Torr. Mit 1 mM 2,3-DPG betragen die entsprechenden Werte 14,3 Torr, 10,7 Torr und 9,1 Torr, mit 5 mM 2,3-DPG 19,0 Torr, 13,7 Torr und 10,8 Torr.

Die Sauerstoff-Affinität von 2,3-DPG-freien Hb-F-Lösungen mit 0,6 M anorganischem Phosphat bei 0,05 M TRIS, pH 7,15 liegt im Bereich der Werte in Gegenwart von 1 mM 2,3-DPG.

Der P_{50} beträgt bei $\sim 10\%$ Methämoglobin $15,9 \pm 0,5$ Torr und bei 66,7 % Methämoglobin $9,5 \pm 0,4$ Torr. Die $\log P_{50}$ -Werte sind in Tabelle III zusammengefaßt.

$\log P_{50}$ (pH 7.15; 37°C)

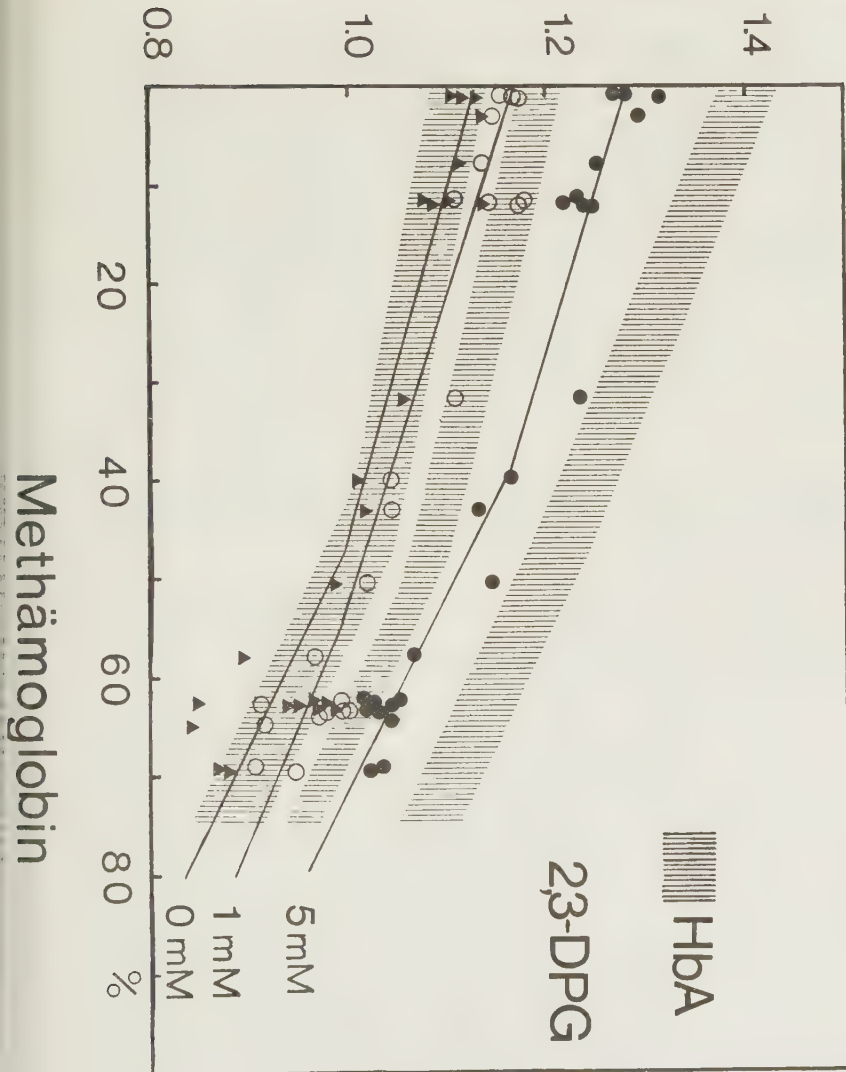


Abb. 3: Der Effekt von 1 mM und 5 mM 2,3-DPG auf den $\log P_{50}$ (pH 7,15; 37°C) von partiell oxidiertem foetalem Hb-F (%) im Vergleich zum adulten Hb-A₁. Die Hb-Konzentration entspricht einer normalen intraerythrozytären Konzentration von 30 g/100 ml. Die Met-Hb-Abschnitte für die Regressionsgeraden (vgl. Tab.IV) wurden rein visuell herausgegriffen.

3. Häm-Häm-Wechselwirkung

Das Zusammenwirken der Hämgruppen im Hb-Tetramer läßt sich durch den Hill'schen Exponent N ausdrücken. Wie aus Abbildung 4 hervorgeht, nimmt der Hill-Faktor mit zunehmender Met-Hb-Konzentration zunächst stärker, dann flacher werdend kontinuierlich ab in Bestätigung früherer Beobachtungen (KLINGENMÜLLER und KIESE (17); ENOKI et al. (9)). Statistisch sicherbare Unterschiede zwischen Hb - A₁ und Hb - F lassen sich nicht nachweisen. Auch ist 2,3-DPG ohne sicheren Einfluß auf das Hill N. Die gruppierten Mittelwerte (s. Tabelle V) lauten für Hb - A₁ und Hb - F bei ca. 5 % Hb-III: 2,66 bzw. 2,72 und bei ca. 70 % Hb-III: 1,24 bzw. 1,21. Zwischen 10 und 50 % Hb-III scheint das Hill N von Hb-F um 0,1 bis 0,2 kleiner zu sein als von Hb-A₁. Hier muß ergänzend gesagt werden, daß bei unserem methodischen Vorgehen

1. aus Mangel an Untersuchungsmaterial in den verschiedenen Oxidationsstufen nur wenige Experimente zur Kooperativität durchgeführt werden konnten,
2. die "Hill'plots" nur zwischen 10 und 90 % O₂-Sättigung gelten.

Somit können Aussagen nur mit Vorbehalt gemacht werden.

Hill's N

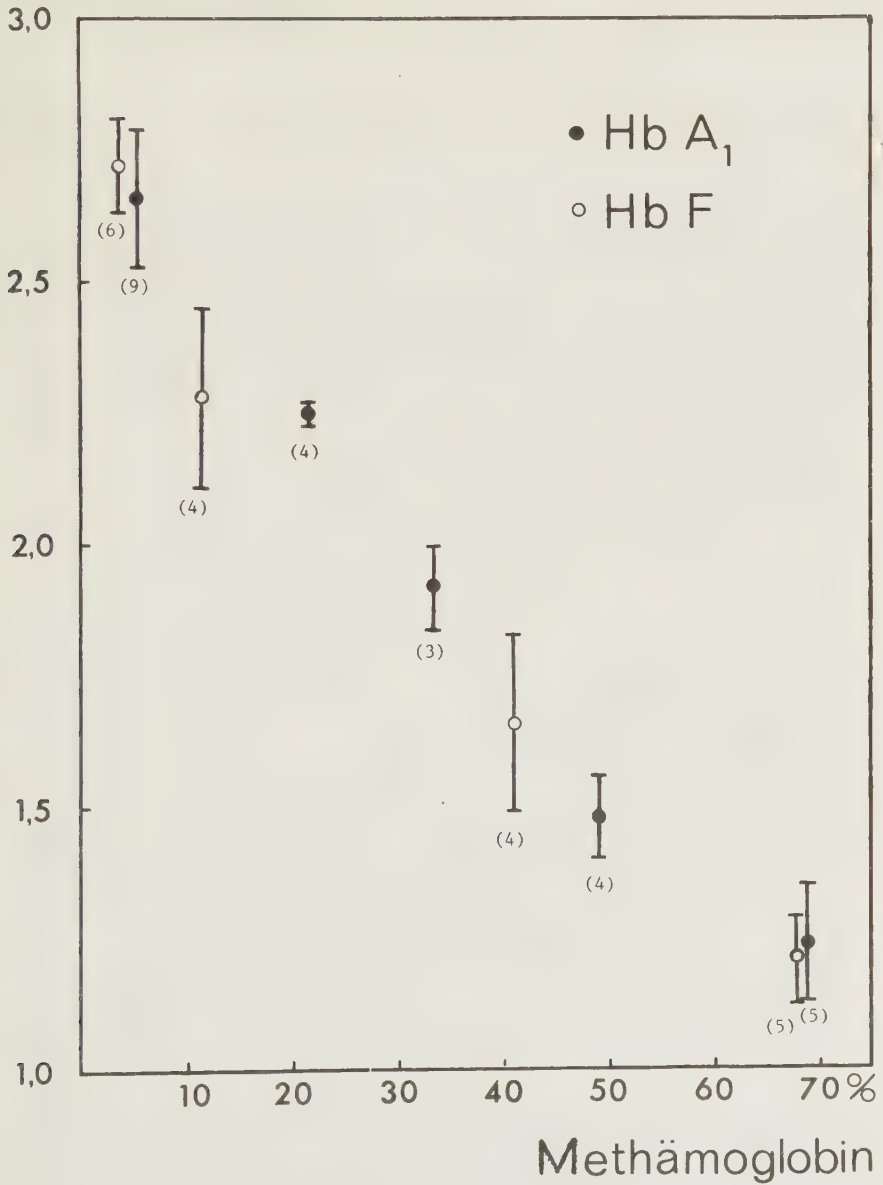


Abb. 4: Hill'scher Exponent N in Abhängigkeit von der Methämoglobinkonzentration (%) in konzentrierten Hb-A₁- und Hb-F-Lösungen. Aufgetragen sind Mittelwerte $\pm$ S.D.(n).

IV. DISKUSSION

Physiologische Aspekte der O_2 -Affinitätsänderungen

Die Diskrepanz zwischen den in der Literatur niedergelegten in vitro Ergebnissen einer Linksverschiebung der Hämoglobin-Sauerstoff-Gleichgewichtskurve (7,9,17) mit in vivo gefundenen Ergebnissen (VERSMOLD et al. 1973 (27)) bei partiell oxidierten Hämoglobinlösungen läßt sich, wie meine Untersuchungen zeigen, auf die unterschiedlichen Untersuchungsbedingungen zurückführen. Die von CHANUTIN und CURNISCH (6) und BENESCH und BENESCH (4) 1967 gefundene Abhängigkeit der O_2 -Affinität von der intraerythrozytären Konzentration von 2,3-DPG konnten früher nicht berücksichtigt werden. Erhöhte 2,3-DPG-Konzentrationen (sie sind bei der Methämoglobinämie in vivo vorhanden (VERSMOLD et al. 1973)) "korrigieren" die Position der Hämoglobin-Sauerstoff-Gleichgewichtskurve auf Normalwerte zurück. Sie kompensieren somit teilweise die veränderte O_2 -Affinität der partiell oxidierten Hämoglobinmoleküle. Die nahezu normale Position der Hämoglobin-Sauerstoff-Gleichgewichtskurve, welche bei der hereditären Methämoglobinämie gefunden wird (1,8,12,13,28) ergibt sich aus den gegensinnigen Auswirkungen erhöhter Met-Hb-Konzentrationen und erhöhter intraerythrozytärer 2,3-DPG-Konzentrationen auf den P_{50} -Wert. Der allosterische Effekt von 2,3-DPG ist sowohl beim nicht oxidierten als auch beim teilloxidierten Hb-F deutlich niedriger als bei entsprechendem Hb-A₁. BAUER et al. (2) stellten 1969 fest, daß sich der P_{50} -Wert des foetalen Hämoglobins im Gegensatz zum adulten Hämoglobin bei Zugabe von 2,3-DPG nur wenig ändert. DE VERDIER und GARBY 1969 (25) konnten nachweisen, daß Hb-F weniger 2,3-DPG zu binden vermag. Die Untersuchungen von SEIFERT 1972 (24a,26) mit einzelnen Hämoglobin-Fraktionen bestätigten die Ergebnisse von BUNN und BRIEHL 1970 (5), wonach 2,3-DPG die O_2 -Affinität von Hb-F₁ gar nicht, die von Hb-F₀ merklich weniger als die von Hb-A₁ beeinflusst. In der perinatalen Periode, d.h. in der Periode mit vorherrschendem Hb-F-Anteil, vermag eine zunehmende 2,3-DPG-Konzentration in den Erythrozyten die methämoglobinabhängige Linksverschiebung der Hämoglobin-Sauerstoff-

C_{O_2} (ml O_2 /100 ml)

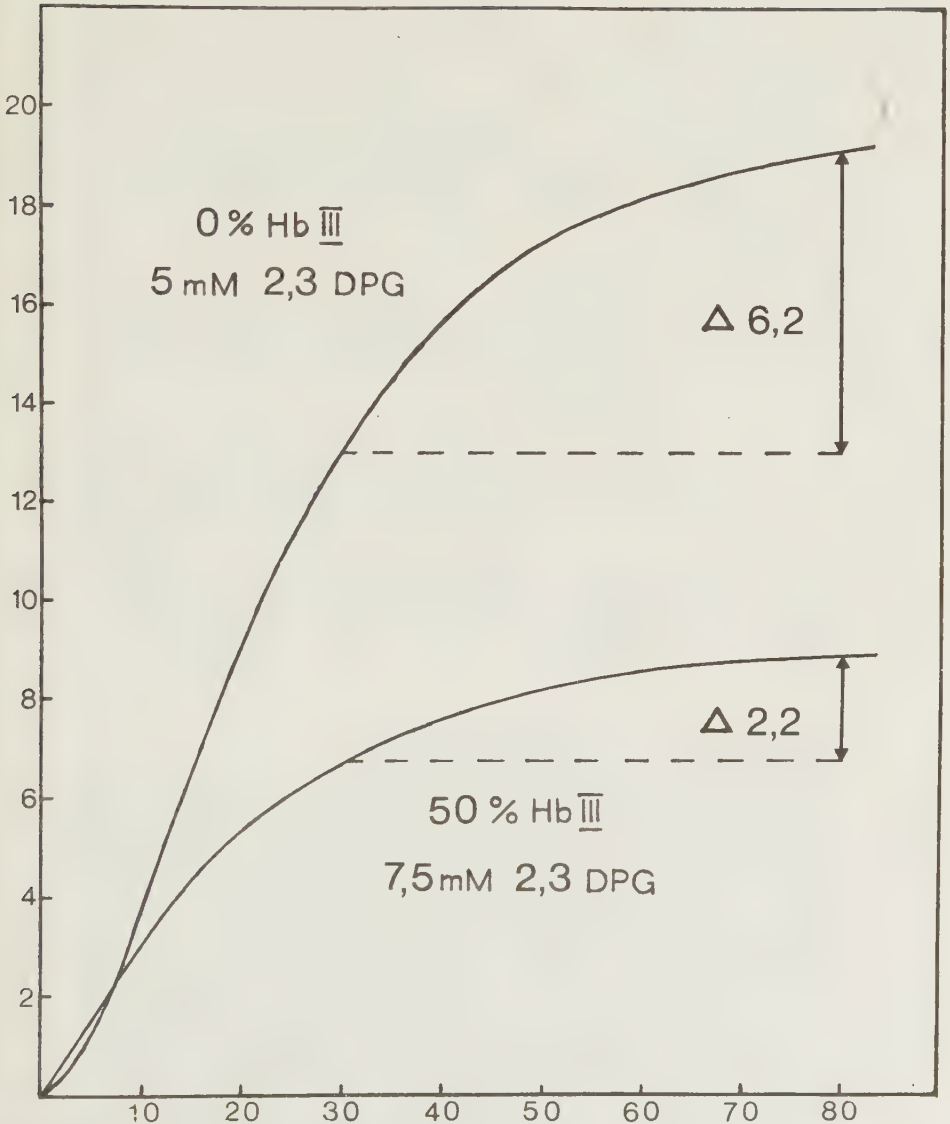


Abb. 5: Hb- O_2 -Gleichgewichtskurve eines Neugeborenen ohne und mit Methämoglobinämie. Die O_2 -Ausschöpfbarkeit wird trotz 2,3-DPG-Vermehrung drastisch reduziert von 6,2 auf 2,2 ml O_2 /100 ml.

Die O_2 -Dissoziationskurven wurden entsprechend den gefundenen Meßdaten (P_{50} , Hill N) sowie Literaturangaben (24) konstruiert für Blutbedingungen ($37^\circ C$, pH 7,4).

P_{O_2} (Torr)

Gleichgewichtskurve weniger zu kompensieren als später. Aber auch ein "normaler" P_{50} würde eine "Anämie" (Methämoglobinämie) nicht ausgleichen. Zusammen mit der geringeren Kooperativität - ein fallendes Hill'sches N bedeutet einen Übergang der sigmoiden O_2 -Bindungskurvenform in eine Hyperbole - und der Inaktivierung im Hämoglobin (gleichbedeutend mit niedrigerer O_2 -Kapazität) ergibt sich eine drastische Reduzierung der O_2 -Versorgung des Gewebes um ca. 65 % (Abb. 5). Die oft erhebliche Entwicklungsverzögerung bzw. -störung bei hereditärer Methämoglobinämie im Neugeborenen- und Säuglingsalter dürfte hierauf zu beziehen sein.

Ob jedoch allein eine Gewebshypoxie, bedingt durch die pathologische O_2 -Affinität und O_2 -Kapazität die Ursache für eine geistige Retardation bei der hereditären Methämoglobinämie sind, muß offen bleiben.

LEROUX et al (19) konnten nämlich kürzlich zeigen, daß es 2 biochemisch differente Typen der hereditären Methämoglobinämie gibt. Patienten mit neurologischen Störungen haben einen generalisierten Defekt der Cytochrom- b_5 -Reduktase auch in nicht erythroiden Geweben. Bei neurologisch normalen Patienten dagegen ist der Cytochrom- b_5 -Reduktase-Defekt auf die Erythrozyten beschränkt.

Biochemische Aspekte der Hämoglobin-Funktion

Abschließend soll auf die Frage eingegangen werden, wieweit sich unsere Untersuchungen über funktionelle Eigenschaften partieller Methämoglobine und ihre allosterische Beeinflussbarkeit auf Grund struktureller Veränderungen am Hämoglobin-Molekül deuten lassen.

Partiell autooxidiertes Hämoglobin liegt als Gemisch von Hb-Molekülen vor, die zu einem unterschiedlichen Grad oxidiert sind. So fanden ITANO und ROBINSON 1956 (14), daß Hämoglobin, welches zu durchschnittlich 79 % Met-Hb oxidiert war, tatsächlich eine Mischung darstellte aus 53 % volloxydiertem, 34 % halboxidiertem und 13 % dreivierteloxidiertem Hämoglobin. Das volloxydierte Molekül reagiert natürlich überhaupt nicht mit Sauerstoff. Die funktionellen Eigenschaften des Gemisches dürften daher überwiegend abhän-

gen von den funktionellen Eigenschaften der halboxidierten Hb-Moleküle, welche den größten Anteil des noch mit Sauerstoff reagierenden Hämoglobins ausmachen. Von Wichtigkeit ist hierbei die Frage, ob die halboxidierten Hb-Moleküle vorwiegend als α -Met-Hybride ($\alpha_2\beta_2$), als β -Met-Hybride ($\alpha_2\beta_2^+$) vorliegen oder inwieweit die Kettenoxidation auf α - und β -Ketten zufällig verteilt ist.

BAUER fand 1973 (3), daß bei pH 7,0 die Bindungskonstante von 2,3-DPG an gemischte Valenz-Hybride geringer ist als an nichtoxidiertes Hämoglobin. Die DPG-Bindung an das β -Cyan-Met-Hybrid ($\alpha_2\beta_2^+ \text{CN}$) ist um den Faktor 10 vermindert, an das α -Cyan-Met-Hybrid ($\alpha_2^+ \text{CN}\beta_2$), d.h. bei nichtoxidierten β -Ketten um den Faktor 3. Entsprechend fanden MAEDA und ONISHI (21), daß der 2,3-DPG-Effekt auf den P_{50} nichtoxidierten Hämoglobins größer ist als bei partiell oxidierten Hybriden. Wiederum ist der 2,3-DPG-Effekt bei dem α -Cyan-Met-Hybrid, d.h. bei nichtoxidierten β -Ketten weniger beeinträchtigt als beim β -Cyan-Met-Hybrid. Unser Befund, daß beim Vorliegen von 50 % Met-Hb der allosterische Effekt von 5 mM 2,3-DPG nur um den Faktor 2,5 vermindert ist, weist darauf hin, daß in einer Hb-Präparation mit 50 % Met-Hb-Anteil das ($\alpha_2^+\beta_2$)-Hybrid vorherrscht. Falls nämlich das ($\alpha_2\beta_2^+$)-Hybrid überwiegen würde, bei dem BAUER die 2,3-DPG-Bindung um den Faktor 10 vermindert fand, so wäre die vergleichsweise geringe Verminderung des 2,3-DPG-Effektes um den Faktor 2,5 damit kaum vereinbar. Einschränkend muß noch einmal festgestellt werden, daß die funktionellen Eigenschaften einer partiell autooxidierten Hb-Lösung nicht durch den darin enthaltenen Anteil halboxidierter Hb-Moleküle allein, sondern auch noch durch den geringen Anteil dreivierteloxidierter Moleküle bestimmt werden. Dennoch deuten unsere Befunde darauf hin, daß im Verlauf der Hb-Oxidation die α -Ketten bevorzugt oxidiert werden. Sie stehen damit im Einklang mit kinetischen Befunden von MC. QUARRIE und GIBSON (23) und mit Kettentrennungsexperimenten nach partieller Autoxidation durch MANSOURI und WINTERHALTER (22).

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die bei der angeborenen Methämoglobinämie gelegentlich beobachteten Cerebralschäden, bedingt möglicherweise durch die erhöhte O_2 -Affinität, waren Ausgang meiner Untersuchungen der Beziehungen zwischen O_2 -Affinität, 2,3-DPG und Methämoglobin von adulten Hämoglobinlösungen (36 Versuche) und foetalen Hämoglobinlösungen (34 Versuche). Die DPG-freien Versuchsreihen (14 für Hb-A₁ und 11 für Hb-F) mit anorganischem Phosphat dienten als Ergänzung des Effektes von 2,3-DPG auf die O_2 -Affinität. Die Ergebnisse zeigen, daß sich die O_2 -Affinität bei zunehmender Autoxidation bei Hb-A₁ wie bei Hb-F deutlich erhöht. Hierbei ist der allosterische Effekt von 2,3-DPG auf Hb-F zwischen 0 und 75 % Met-Hb deutlich niedriger als auf Hb-A₁. Mit zunehmender Autoxidation nimmt die Häm-Häm-Wechselwirkung beträchtlich ab, wobei sich zwischen Hb-F und Hb-A₁ kein sichtbarer Unterschied zeigte. Die physiologischen Auswirkungen sind dahingehend zu interpretieren, daß die stark reduzierte O_2 -Entladungsfähigkeit bei der Methämoglobinämie durch die 2,3-DPG-Zunahme nicht kompensiert werden kann. Es ist anzunehmen, daß die Autoxidation von Hämoglobinlösungen bevorzugt an den α -Ketten stattfindet.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. BAIKIE, A.G. and D.J. VALTIS (1954):
Gas transport function of the blood in congenital
familial methemoglobinemia
Brit. Med. J. 2, 73-76
2. BAUER, C., M. LUDWIG, I. LUDWIG and H. BARTELS (1969):
Factors governing the oxygen affinity of human adult
and fetal blood
Resp. Physiol. 7, 271-277
3. BAUER, C., Y. HENRY and R. BANERJEE (1973):
Binding of 2,3-diphosphoglycerate to hemoglobin
valency hybrids
Nature 242, 208-209
4. BENESCH, R. and R.E. BENESCH (1967):
The effect of organic phosphates from the human ery-
throcyte on the allosteric properties of hemoglobin
Biochem. Biophys. Res. Commun. 26, 162-167
5. BUNN, H.F. and R.W. BRIEHL (1970):
The interactions of 2,3-diphosphoglycerate with
various human hemoglobins
J. Clin. Invest. 49, 1088-1095
6. CHANUTIN, A. and R.R. CURNISCH (1967):
Effect of organic and inorganic phosphates on the
oxygen equilibrium of human erythrocytes
Arch. Biochem. 121, 96-102
7. DARLING, R.C. and F.J.W. ROUGHTON (1942):
The effect of methemoglobin on the equilibrium
between oxygen and hemoglobin
Amer. J. Physiol. 137, 56-68

8. EDER, H.A., C.A. FINCH and R.W. Mc KEE (1949):
Congenital methemoglobinemia: Clinical and biochemical study of case
J. Clin. Invest. 28, 265-272
9. ENOKI, Y., H. TOKUI, J. TYUMA and T. OKUDA (1969):
Oxygen equilibria of partially oxidized hemoglobin
Resp. Physiol. 7, 300-309
10. EVELYN, K.A. and H.T. MALLOY (1938):
Microdetermination of oxyhemoglobin, methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood
J. Biol. Chem. 126, 655-662
11. FORSTER, R.E. (1972):
The effect of dilution in saline on the oxygen affinity of human hemoglobin
In: RØRTH, M. and P. ASTRUP (eds.): Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid base status.
Munksgaard, Copenhagen, p.p. 162-165
12. GIBSON, Q.H. and D.C. HARRISON (1947):
Familial idiopathic methemoglobinemia. Five cases in one family
Lancet 2, 941-943
13. HITZENBERGER, K. (1932):
Autotoxische Zyanose (Intraglobuläre Methämoglobinämie)
Wien. Arch. inn. Med. 23, 85
14. ITANO, H.A. and E. ROBINSON (1956):
Demonstration of intermediate forms of carbon monoxy and ferrihemoglobin by moving boundary electro-phoresis
J. Amer. Chem. Soc. 78, 6415
15. JONXIS, J.H.P. and T.H.J. HUISMANN (1968):
A laboratory manual on abnormal hemoglobins, 2nd Edition
Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh

16. KIESE, M. (1974):
Methemoglobinemia: A comprehensive treatise
CRC PRESS, Inc.; Cleveland, Ohio
17. KLINGENMÜLLER, G. und M. KIESE (1949):
Der Einfluß partieller Hämoglobinbildung auf die
Sauerstoffbindung des Blutfarbstoffs.
Arch. exper. Path. Pharmacol. 208, 195-196
18. LAMY, M., J. FRÉZAL, M. JAMMET et N. JOSSO (1963):
La méthémoglobinémie congénitale récessive
Nouv. Rev. franc. d'hémat. 3, 105-120
19. LEROUX, A., C. JUNIEN, J.C. KAPLAN and J. BAMBERGER (1975):
Generalized deficiency of cytochrome b_5 reductase
in congenital methaemoglobinemia with mental retar-
dation.
Nature 258, 619-620
20. LITARCZEK, G., H. AUBERT, I. COSMULESCO, V. COMANESCO et
S. LITARCZEK (1930):
Sur un cas de cyanose auto - toxique par méthé -
moglobinémie intra - globulaire
Sang 4, 188
21. MAEDA, T. and S. OHNISHI (1971):
Kinetic evidence for propagation of conformational
changes in the α -subunit to the β -subunit of
hemoglobin
Biochemistry 10, 1177-1180
22. MANSOURI, A. and K.H. WINTERHALTER (1973):
Non equivalence of chains in hemoglobin oxidation.
Biochemistry 12, 4946-4949

23. Mc QUARRIE, R.A. and Q.H. GIBSON (1971):
Functional heterogeneity of the α and β chains in the
oxidation-reduction reaction of human hemoglobin
J. Biol. Chem. 246, 517-522
24. RIEGEL, K.P. and H.T. VERSMOLD (1977):
Respiratory gas transport characteristics of blood and
hemoglobin. In: U. STAVE (ed): Perinatal Physiology.
New York-London-Washington-Boston: Plenum Publ. Corp.
im Druck.
- 24a. SEIFERT, G. (1972):
Fetales Hämoglobin und 2,3-Diphosphoglycerat als
determinierende Faktoren der O₂-Transportfunktion
des Blutes im ersten Lebensjahr.
Inaugural-Dissertation, München 1972
25. DE VERDIER, C.H. and L. GARBY (1969):
Low binding of 2,3-diphosphoglycerate to hemoglobin F
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 23, 149-151
26. VERSMOLD, H., G. SEIFERT and K. RIEGEL (1973):
Blood oxygen affinity in infancy: The interaction of
fetal and adult hemoglobin, oxygen capacity, and red
cell hydrogen ion and 2,3-diphosphoglycerate concen-
tration
Resp. Physiol. 18, 14-25
27. VERSMOLD, H., E. KOHNE, K. RIEGEL, K. BETKE and
E. KLEIHauer (1973):
Oxygen carrying function of blood in hereditary
methemoglobinemia: Ambivalent effects of 2,3-diphospho-
glycerate. In: GERLACH, E., K. MOSER, W. WILMANNs and
E. DEUTSCH (eds.): Erythrocytes, thrombocytes,
leukocytes
Thieme Stuttgart 1973, 171-174

28. WAISMAN, H.A., J.A. BAIN, J.B. RICHMOND and F.A. MUNSEY
(1952):

Laboratory and clinical studies in congenital
methemoglobinemia

Pediatrics 10, 293-304

TABELLE I: $\log P_{50}$ (Torr) und Methämoglobin (%) für Hb-A₁
Gruppenmittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichung (S_{xi})

	Met-Hb	2,3-DPG		
	%	O mM	1 mM	5 mM
		$\log P_{50}$		
Methämoglobin	1,5	1,087	-	1,348
≤ 10 %	3,0	1,117	1,178	1,392
	5,0	1,128	1,225	1,404
	6,8	1,100	1,182	1,362
	7,2	1,112	1,174	1,375
	7,7	1,082	1,143	1,368
	7,7	1,064	1,162	1,387
	7,7	1,092	1,158	1,384
	7,7	1,085	1,176	1,408
	7,7	1,067	1,184	1,352
	7,7	-	1,170	1,374
$\bar{x}$	6,3	1,093	1,175	1,378
S_{xi}	± 2,2	± 0,021	± 0,021	± 0,021
Methämoglobin	14,0	1,094	1,175	1,360
11 - 25 %	21,0	1,070	1,165	1,318
	21,4	1,070	1,130	1,295
	22,3	1,105	-	1,325
	22,5	1,070	1,160	1,290
	22,7	1,060	1,120	1,307
$\bar{x}$	20,7	1,078	1,150	1,316
S_{xi}	± 3,3	± 0,017	± 0,021	± 0,025

TABELLE I: Hb-A₁

	Met-Hb (%)	2,3-DPG		
		0 mM	1 mM	5 mM
Methämoglobin	27,9	1,090	1,130	1,330
26 - 40 %	28,4	1,085	1,110	1,340
	29,2	1,080	1,132	1,341
	32,0	1,048	1,136	1,268
	35,0	1,085	1,100	1,255
	35,6	1,032	1,142	1,310
$\bar{x}$	31,4	1,070	1,125	1,307
S_{xi}	$\pm 3,4$	$\pm 0,024$	$\pm 0,023$	$\pm 0,037$
Methämoglobin	45,9	-	1,088	1,255
41 - 55 %	47,5	-	-	1,175
	48,4	0,950	1,060	1,195
	48,7	0,990	1,080	1,195
	49,6	1,000	1,070	1,225
	49,6	1,030	1,090	1,198
	53,8	-	-	1,185
	55,0	1,005	-	-
$\bar{x}$	49,8	0,995	1,078	1,204
S_{xi}	$\pm 3,1$	$\pm 0,029$	$\pm 0,012$	$\pm 0,027$
Methämoglobin	58,2	0,993	1,043	1,163
> 55 %	73,7	0,902	0,940	1,089
	74,0	0,902	0,975	1,042
	75,0	0,836	-	1,100
	75,5	0,876	-	1,072
$\bar{x}$	71,3	0,902	0,986	1,093
S_{xi}	$\pm 7,3$	$\pm 0,053$	$\pm 0,052$	$\pm 0,045$

TABELLE II: $\log P_{50}$ (Torr) und Methämoglobin für Hb-F
Gruppenmittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichung (S_{xi})

	Met-Hb	2,3-DPG		
	(%)	0 mM	1 mM	5 mM
		log P ₅₀		
Methämoglobin	0,9	1,115	1,155	1,280
≤ 10 %	0,9	1,105	1,162	1,270
	1,0	1,127	1,172	1,300
	3,0	1,135	1,147	1,292
	7,1	1,114	1,138	1,251
	$\bar{x}$	1,119	1,155	1,279
	S_{xi}	± 0,011	± 0,013	± 0,019
Methämoglobin	11,3	1,078	1,108	1,232
11 - 25 %	11,6	1,105	1,142	1,218
	11,6	1,082	1,176	1,238
	11,9	1,136	1,172	1,245
	$\bar{x}$	1,100	1,150	1,233
	S_{xi}	± 0,026	± 0,031	± 0,011
Methämoglobin	31,8	1,052	1,108	1,234
26 - 40 %	40,0	1,006	1,042	1,161
	$\bar{x}$	1,029	1,075	1,198
	(S_{xi}	± 0,030	± 0,047	± 0,052)

TABELLE II: Hb-F

	Met-Hb (%)	2,3-DPG		
		0 mM	1 mM	5 mM
Methämoglobin	43,0	1,015	1,042	1,130
41 - 55 %	50,4	0,985	1,018	1,142
$\bar{x}$	46,7	1,000	1,030	1,136
(S_{xi}	$\pm 5,2$	$\pm 0,021$	$\pm 0,017$	$\pm 0,008$)
Methämoglobin	57,8	0,982	0,965	1,064
> 55 %	62,4	0,965	0,992	1,022
	62,5	0,845	0,901	1,048
	62,9	0,938	0,970	1,024
	62,9	0,946	0,975	1,022
	62,9	0,967	0,995	1,040
	62,9	0,972	0,993	-
	63,1	0,985	0,973	1,027
	64,5	0,837	0,914	1,042
	69,0	0,868	0,905	1,034
	69,4	0,875	0,945	1,017
$\bar{x}$	63,7	0,917	0,957	1,034
S_{xi}	$\pm 3,3$	$\pm 0,054$	$\pm 0,035$	$\pm 0,015$

TABELLE III: $\log P_{50}$ (Torr) und Methämoglobin (%) für DPG-freie Hämoglobinlösungen Hb-A₁ und Hb-F in 0,6 M anorg. Phosphat. Gruppenmittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichung (S_{xi}).

	Met-Hb (%)	$\log P_{50}$ (Torr)		Met-Hb (%)	$\log P_{50}$ (Torr)
<u>Hb-A₁:</u>	8,1	1,160	<u>Hb-F:</u>	8,7	1,206
	8,1	1,163		8,7	1,188
	8,1	1,185		15,0	1,215
	8,1	1,175			
	8,1	1,181	$\bar{x}$	10,8	1,203
	9,8	1,142	$S_{xi} \pm$	3,6	$\pm 0,014$
	9,8	1,131			
	9,8	1,138		51,7	0,985
				51,7	0,980
$\bar{x}$	8,7	1,159		51,7	0,985
$S_{xi} \pm$	0,9	$\pm 0,019$			
			$\bar{x}$	51,7	0,983
			$S_{xi} \pm$	0	$\pm 0,003$
	67,7	0,992			
	67,7	1,018		66,7	1,000
	67,7	1,014		66,7	0,980
	67,7	0,998		66,7	0,985
	67,7	0,976		66,7	0,955
	67,7	0,977		66,7	0,975
$\bar{x}$	67,7	0,995	$\bar{x}$	66,7	0,979
$S_{xi} \pm$	0	$\pm 0,018$	$S_{xi} \pm$	0	$\pm 0,016$

TABELLE IV: Die Regressionskonstanten der Beziehung $\log P_{50}$ (Torr) versus Methämoglobin (%) in Gegenwart von verschiedenen 2,3-DPG-Konzentrationen bei 37°; pH 7,15; Hb 4,5-5,0 mM
 $\log P_{50}$ (Torr) = $b \times \text{Met-Hb} (\%) + a$

Hb Typ	Methämoglobin (%)	2,3-DPG (mM)	n	b $\times 100$	a	r	$s_{y \cdot x}$
(1) A ₁	0 - 55	0	27	-0.2045	1.1140	-0.813	0.0248
		1	26	-0.2361	1.1925	-0.889	0.0200
		5	30	-0.4017	1.4058	-0.921	0.0296
(4)	40 - 80	0	10	-0.4690	1.2334	-0.879	0.0330
		1	8	-0.4668	1.3047	-0.967	0.0154
		5	12	-0.4700	1.4293	-0.896	0.0303
(7) F	0 - 55	0	13	-0.2747	1.1286	-0.944	0.0176
		1	13	-0.2863	1.1712	-0.922	0.0221
		5	13	-0.2961	1.2825	-0.920	0.0232
(10)	40 - 80	0	13	-0.4935	1.2313	-0.597	0.0497
		1	13	-0.4345	1.2336	-0.729	0.0305
		5	12	-0.5065	1.3595	-0.902	0.0190

n = Zahl a = Intercept r = Korrelationskoeffizient

b = Regressionskoeffizient $s_{y \cdot x}$ = Streuung von y gegen x

TABELLE V: Hill'scher Exponent N in Abhängigkeit von der Methämoglobinkonzentration in konzentrierten Hb-A₁ - und Hb-F-Lösungen. Zwischen 0 und 5 mM 2,3-DPG-Werten ergeben sich keine Unterschiede. Die Mittelwerte ($\pm$ SD) wurden somit aus allen Daten einer Met-Hb-Gruppe gebildet.

Hb-A ₁ :	Met-Hb (%)	2,3-DPG		Hb-F:	Met-Hb (%)	2,3-DPG	
		0 mM	5 mM			0 mM	5 mM
	1,5	2,87	2,72		1,0	2,85	2,80
	3,0	2,67	2,70		3,0	2,68	2,60
	7,2	2,55	2,68		7,0	2,65	2,72
	7,7	2,69	2,68				
	8,1	2,39	-	$\bar{x}$	3,7	2,72	$\pm$ 0,09
$\bar{x}$	5,5	2,66	$\pm$ 0,13				
					11,3	2,15	2,35
					11,9	2,48	2,12
	21,0	2,22	2,24	$\bar{x}$	11,6	2,28	$\pm$ 0,17
	22,5	2,27	2,27				
$\bar{x}$	21,8	2,25	$\pm$ 0,02				
					31,8	1,85	1,75
					50,4	1,47	1,56
	32,0	1,92	1,99	$\bar{x}$	41,1	1,66	$\pm$ 0,17
	35,0	1,84	-				
$\bar{x}$	33,5	1,92	$\pm$ 0,08				
					64,5	1,28	1,22
					69,0	1,22	-
	48,7	1,58	1,52		69,4	1,08	1,27
	49,6	1,40	1,47	$\bar{x}$	67,6	1,21	$\pm$ 0,08
$\bar{x}$	49,2	1,49	$\pm$ 0,08				
	58,2	1,32	-				
	67,7	1,25	-				
	74,0	1,29	1,27				
	75,5	1,05	-				
$\bar{x}$	68,8	1,24	$\pm$ 0,11				

Herrn Prof. Dr. med. K. Betke bin ich für die Möglichkeit, die Bearbeitung meines Themas an seiner Klinik durchführen zu dürfen, zu großem Dank verpflichtet.

Frl. H. Windthorst danke ich für die Herstellung der Hämoglobinlösungen und Frl. C. Luft für die Durchführung der gaschromatographischen Bestimmung des Sauerstoff-Gehaltes beim Methodenvergleich.

LEBENS LAUF

Am 29. Mai 1947 wurde ich in Hardetschlag/CSSR als 2. Kind des Gymnasialprofessors i.R. Karl Eugen Fürst und der Lehrerin Maria Fürst, geb. Lehmacher, geboren.

Von 1954-1958 besuchte ich die Volksschulen in Frankenweiler/Pfalz und Koblenz, und trat dort in das Realgymnasium ein. Ich beendete meine Schulzeit am 21. Juli 1967 mit dem Abitur an dem mat.-nat. Gymnasium in Fürstenfeldbruck. Von 1968-1969 leistete ich den Grundwehrdienst bei der Bundeswehr ab. Im Sommersemester 1969 begann ich mein Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Fakultät der Universität München, das ich dort am 16. Juni 1975 mit dem Staatsexamen beendete.

Von September 1975 bis Februar 1976 war ich Medizinalassistent an der III. Medizinischen Klinik bei Herrn Prof. Dr. Frosch im Westkrankenhaus Augsburg.

Zur Zeit arbeite ich auf der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Kipfenberg/Obb.

